



## Doctoral Thesis

# **Erythropoietin's impact on endurance performance under normoxic condition and upon acclimatization to moderate altitude**

**Author(s):**

Schuler, Beat

**Publication Date:**

2009

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005772724> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 18183

**Erythropoietin's impact on endurance performance under normoxic condition and upon acclimatization to moderate altitude**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Natural Sciences

presented by

Beat Schuler

Dipl. Natw. ETH

Date of birth

16 June 1972

citizen of

Schübelbach (SZ)

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Urs Boutellier

Prof. Dr. Max Gassmann

Prof. Dr. Jean-Claude Perriard

2009

# 1. Summary

Hypoxia is the main stimulus of erythropoietin (Epo) expression. The oxygen (O<sub>2</sub>)-sensing protein termed hypoxia-inducible factor (Hif) has been identified as a key regulator of Epo. At normoxia, Hif- $\alpha$ , a subunit of Hif, is degraded but stabilized under hypoxic condition, in which it enhances Epo gene expression resulting in increased erythrocyte production and in an increased O<sub>2</sub> transport capacity of blood. Within the normal physiological range, maximal O<sub>2</sub> uptake ( $\dot{V}O_{2\max}$ ) increases in parallel with increasing blood O<sub>2</sub> transport capacity at normoxia. Therefore, some endurance athletes live at moderate altitude and train at low altitude to improve sea level performance. Others do misuse recombinant human Epo (rhEpo), originally developed for the treatment of anemia. An unwanted side effect of an Epo-induced increase in the blood's O<sub>2</sub> transport capacity is an increased blood viscosity due to the elevated hematocrit (Htc) levels. The higher blood viscosity strains the cardiovascular system and may limit endurance performance. On the other hand, our transgenic mice line (tg6) overexpressed Epo constitutively and therefore reached Htc levels between 0.8 and 0.9 and interestingly, there were no signs of pathological alterations in three month old mice. To study the impact of various Htc levels on exercise performance and the cardiovascular system, telemetry and indirect calorimetry in exercising mice were combined and improved in a first study. Telemetry offers the possibility to monitor arterial blood pressure from conscious, freely moving laboratory mice; however, its use has been limited because of high morbidity and mortality particularly in genetically modified animals. Often, either a weak telemetric signal is observed during exercise or even none at all is observed. Here, we show an optimized transmitter implantation technique to improve the telemetric signal in exercising mice. Moreover, a new postoperative intensive care regime and analgesia were used to reduce morbidity and mortality. The new tool is useful for investigators who plan to measure cardiovascular function in mice using telemetry, but the surgical procedure remains challenging.

The aim of the second study was to investigate the effect of varying Htc levels on exercise performance and the vascular system. To this end, wild type mice (wt) and tg6 mice were injected with the novel erythropoiesis stimulating protein (NESP; wtNESP), or the hemolysis inducing compound phenylhydrazine (PHZ; tg6PHZ), respectively. Highest  $\dot{V}O_{2\max}$  and best time to exhaustion were reached at Htc values of 0.58 and 0.57 for wtNESP mice, and 0.68 and 0.66 for tg6PHZ, respectively. Maximal stroke volume was observed at similar Htc levels. Interestingly,  $\dot{V}O_{2\max}$  of wtNESP was most closely related to whole body hemoglobin in an Htc range from 0.4 to 0.55.  $\dot{V}O_{2\max}$  was correlated with blood viscosity.

We conclude that (1.) tgPHZ adapt better to varying Htc levels than wtNESP do, (2.) endurance performance is primarily limited by O<sub>2</sub> delivery and (3) the general observation that  $\dot{V}O_{2\max}$  is strongly correlated with whole body hemoglobin is only valid within the physiological Htc range and when Htc levels are increased.

Acute hypoxia induces a reduction in  $\dot{V}O_{2\max}$ . During altitude acclimatization above 4100 m, arterial O<sub>2</sub> content increases due to the increasing hemoglobin concentration without effecting  $\dot{V}O_{2\max}$ . The data on moderate altitude are controversial. Thus, a third study investigated the hypothesis that  $\dot{V}O_{2\max}$  and performance increase upon altitude acclimatization to 2340 m. Therefore, eight elite cyclists trained during a period of 21 days according to the “live high-train low” approach. Performance parameters were mainly improved within the first fourteen days, whereas in the following week, only a slight improvement was observed. These results suggest that athletes who plan to compete around this altitude have to arrive at least fourteen days before the beginning of the competition in order to be prepared optimally for the competition day.

## 2. Zusammenfassung

Hypoxie ist der Hauptstimulus der Erythropoietin (Epo)-Expression. Der Sauerstoff ( $O_2$ )-sensitive hypoxie-induzierbare Faktor (Hif) wurde als wichtigster Regulator von Epo identifiziert. Unter normoxischen Bedingungen wird Hif- $\alpha$ , eine Untereinheit von Hif, schnell abgebaut, bleibt aber bei Hypoxie stabil. Als Folge steigt die Epo-Expression und somit die Erythrozytenproduktion und  $O_2$ -Transportkapazität des Blutes an. Unter Normoxie nimmt die maximale  $O_2$ -Aufnahme ( $\dot{V}O_{2max}$ ) bei normalen physiologischen Bedingungen parallel zur  $O_2$ -Transportfähigkeit des Blutes zu. Darum halten sich manche Ausdauerathleten auf moderater Höhe auf und trainieren alternierend in tieferen Lagen („live high-train low“), um ihre Leistung auf Meereshöhe zu verbessern. Gewisse skrupellose Athleten missbrauchen rekombinantes humanes Epo (rhEpo), welches in erster Linie für die Behandlung von anämischen Krankheiten entwickelt wurde, zur Steigerung ihrer Leistungsfähigkeit. Eine unerwünschte Nebenerscheinung ist die Zunahme der Blutviskosität, welche durch die Zunahme des Hämatokrit (Htc)-Spiegels hervorgerufen wird. Die erhöhte Blutviskosität belastet das kardiovaskuläre System enorm und könnte die Ausdauerleistung limitieren. Interessanterweise, wurden aber keine pathologischen Veränderungen in 3 Monaten alten transgenen Mäusen (tg6) gefunden. Diese Mauslinie überexprimiert humanes Epo konstitutiv und erreicht deshalb Htc-Werte zwischen 0.8 und 0.9. Um den Einfluss verschiedener Htc-Werte im Bezug auf Ausdauerleistung und kardiovaskulären System zu untersuchen, wurden in einer ersten Studie vorgängig Telemetrie und indirekte Kaliometrie während körperlicher Belastung kombiniert bzw. verbessert, um sportmedizinisch relevante Parameter bei Mäusen messen zu können. Die Telemetrie ermöglicht die Messung des Blutdrucks in wachen, sich frei bewegenden Labortiermäusen. Allerdings ist dessen Anwendbarkeit durch eine hohe Mobilität und Mortalität der Tiere, und mit keinem oder nur schlechten telemetrischen Signal während körperlicher Betätigung limitiert. Darum zeigen wir hier eine optimierte Implantationstechnik um das telemetrische Signal während körperlicher Betätigung zu verbessern. Zudem wurde ein neues postoperatives Behandlungsregime und verbesserte Analgesie etabliert, um die Morbidität und Mortalität zu reduzieren. Diese neue Implantations- und Behandlungsmethode ist für Forscher wichtig, die die kardiovaskulären Funktionen in Mäusen mit der Telemetrie-Technik untersuchen möchten. Dennoch bleibt die Transmitterimplantation anspruchsvoll.

Das Ziel der zweiten Studie war es den Einfluss verschiedener Htc-Werte auf die sportliche Leistungsfähigkeit sowie kardiovaskuläre System zu untersuchen. Für diesen Zweck wurden Wildtyp (wt)- und tg6-Mäuse mit dem Erythropoiese stimulierenden Protein

(NESP; wtNESP) respektive, dem Hämolyse induzierenden Phenylhydrazin (PHZ; tg6PHZ) behandelt. Höchster  $\dot{V}O_{2\max}$  und beste Zeit bis zur Erschöpfung wurden bei Htc-Werten von 0.58 und 0.57 für wtNESP, bzw. 0.68 und 0.66 für tg6PHZ gemessen. Maximales Herzschlagvolumen wurde bei ähnlichen Htc-Werten beobachtet. Interessanterweise korrelierte  $\dot{V}O_{2\max}$  nur bei wtNESP-Mäusen in einem Htc-Bereich von 0.4 bis 0.55 am stärksten mit der gesamten Hämoglobinnmenge. Zudem wurde eine Abhängigkeit zwischen  $\dot{V}O_{2\max}$  und Blutviskosität beobachtet. Wir schlossen daraus, dass (1.) sich tg6PHZ-Mäuse besser an die veränderten Htc-Werte anpassen konnten als die wtNESP-Mäuse, (2.) die Ausdauerleistung hauptsächlich von der  $O_2$ -Verfügbarkeit limitiert ist und (3)  $\dot{V}O_{2\max}$  stark mit der gesamten Hämoglobinkonzentration korreliert. Allerdings gilt letzteres nur innerhalb des physiologischen Htc-Bereichs und sofern die Htc-Werte erhöht wurden.

Akute Hypoxie verursacht eine Reduktion von  $\dot{V}O_{2\max}$ . Während der Höhenakklimatisierung oberhalb von 4100 m, steigt der arterielle  $O_2$ -Gehalt im Blut aufgrund der Zunahme der Hämoglobinkonzentration auf oder über Meereshöheniveau an, wobei  $\dot{V}O_{2\max}$  davon unbeeinflusst ist. Doch sind die Daten auf mittlerer Höhe kontrovers. Während in einigen Studien  $\dot{V}O_{2\max}$  nicht anstieg, berichten andere von einer minimalen Zunahme. Darum wurde in der dritten Studie die Hypothese untersucht, ob  $\dot{V}O_{2\max}$  und Leistung während der Höhenakklimatisation an 2340 m ansteigen. 8 Eliteradfahrer trainierten während 21 Tagen gemäss dem „live-high-train low“ Prinzip. Die leistungsbezogenen Parameter verbesserten sich hauptsächlich in den ersten 14 Tagen während in den darauf folgenden 7 Tagen nur noch ein leichter Anstieg beobachtet wurde. Diese Resultate legen nahe, dass Sportler, die auf etwa dieser Höhe einen Wettkampf betreiben möchten, sich mindestens 14 Tage vor Wettkampfbeginn auf diese Höhe begeben müssen, um am Wettkampftag bestmöglichst vorbereitet zu sein.